

# **Universidad Nacional “Pedro Ruiz Gallo”**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Departamento Académico Microbiología y Parasitología**



**Prevalencia y susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *Blastocystis hominis* aislados de pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque, Noviembre 2014 – Mayo 2015.**

## **TESIS**

*Para optar el Título Profesional de:*

**LICENCIADO EN  
BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA**

**Presentado por:**

**Br. LORENA FLORES ESQUECHE**

**LAMBAYEQUE – PERU**

**2015**

**Prevalencia y susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *Blastocystis hominis* aislados de pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque, Noviembre 2014 – Mayo 2015.**

## **TESIS**

*Para optar el Título Profesional de Licenciado en:*

**BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA**

Sustentada y Aprobada por el siguiente jurado

**Blgo. VÍCTOR H. MELENDEZ GUERRERO**

---

**PRESIDENTE**

**Lic. MARIO C. MORENO MANTILLA**

---

**SECRETARIO**

**Dra. ELSA V. ÁNGULO DE ALVA**

---

**VOCAL**

**Mblga. MARÍA T. SILVA GARCÍA**

---

**PATROCINADORA**

**Dr. HEBER SILVA DÍAZ**

---

**CO- PATROCINADOR**

*A mis queridos padres y hermanos,  
quienes con su esfuerzo han permitido mi  
realización profesional.*

## **AGRADECIMIENTO**

Debo agradecer de manera especial y sincera a mi asesora de tesis, Mblga. María Teresa Silva García, por aceptarme para realizar mi tesis bajo su dirección.

Con admiración y respeto a mi co - asesor y principal colaborador de la tesis, Dr. Heber Silva Díaz, por la constante orientación brindada durante todas las fases del presente trabajo de investigación.

Al Hospital Regional Lambayeque - Chiclayo, dirigida por el Dr. Daniel Linares Baca, por permitirme realizar la ejecución de la presente investigación en los ambientes de esta institución. Así mismo doy gracias a la Dra. Nancy Mocarro Aguilar, jefa de la dirección de investigación de esta institución por la aprobación del proyecto. Del mismo modo a la Dra. Verónica Yuntón Chávez, jefa del Laboratorio de investigación por facilitarme el uso de los ambientes del laboratorio. También, mi agradecimiento a todo el personal que labora en el Laboratorio de investigación (Lab. Parasitología).

Igualmente mi muestras de gratitud a la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo – Lambayeque, en especial a mi facultad Ciencias Biológicas, quien desde un inicio confió en el proyecto de investigación. Del mismo modo, mi agradecimiento a todo el personal que labora en el laboratorio de parasitología clínica del área de microbiología de esta institución.

A Génesis Masiel Guevara Vásquez por su apoyo en el proceso estadístico.

Finalmente doy mi gratitud a todas y cada una de las personas que colaboraron y brindaron el entorno adecuado para culminar de manera satisfactoria el presente trabajo de investigación.

## CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iii
RESUMEN.....	iv
I. INTRODUCCIÓN.....	01
II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	03
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
3.1 Materiales.....	10
3.1.1. Material biológico.....	10
3.1.2. Población y muestra de estudio.....	10
3.1.3. Reactivos.....	11
3.1.4. Material de laboratorio.....	11
3.1.5. Equipos e instrumentos.....	12
3.2. Metodología.....	12
3.2.1. Tipo de estudio y diseño de contrastación de la misma.....	12
3.2.2. Lugar de muestreo.....	12
3.2.3. Toma de muestra.....	13
3.2.4. Diagnóstico microscópico de <i>Blastocystis hominis</i> .....	13
3.2.5. Cultivo de <i>Blastocystis hominis</i> .....	14
3.2.6. Prueba de susceptibilidad antiparasitaria in vitro.....	15
3.2.7. Procesamiento de datos.....	16
3.2.8. Análisis de datos.....	16
IV. RESULTADOS.....	18
4.1. Prevalencia.....	18
4.2. Susceptibilidad antiparasitaria.....	21
V. DISCUSIÓN.....	25
VI. CONCLUSIONES.....	28
VII. RECOMENDACIONES.....	29
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
IX. ANEXO.....	34

## ÍNDICE DE TABLAS

TablaNº	Págs.
1. Prevalencia de <i>Blastocystis hominis</i> aislados de pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque distribuidos según género. Lambayeque, Perú. Noviembre 2014 – mayo 2015.....	18
2. Prevalencia de <i>Blastocystis hominis</i> aislados de pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque distribuidos según grupo etario. Lambayeque, Perú. Noviembre 2014 – mayo 2015.....	18
3. Prevalencia de <i>Blastocystis hominis</i> aislados de pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque distribuidos según color de heces. Lambayeque, Perú. Noviembre 2014 – mayo 2015.....	19
4. Prevalencia de <i>Blastocystis hominis</i> aislados de pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque distribuidos según consistencia de heces. Lambayeque, Perú. Noviembre 2014 – mayo 2015.....	19
5. Prevalencia de <i>Blastocystis hominis</i> aislados de pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque distribuidos según lugar de procedencia. Lambayeque, Perú. Noviembre 2014 – mayo 2015.....	20
6. Características asociadas a <i>B. hominis</i> en pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque Noviembre 2014 – mayo 2015. N=432.....	20
7. Susceptibilidad antiparasitaria in vitro de <i>B. hominis</i> frente al metronidazol (n=24).....	21
8. Ajuste del modelo Probit para la susceptibilidad antiparasitaria in vitro de <i>B. hominis</i> frente al metronidazol .....	21
9. Susceptibilidad antiparasitaria in vitro de <i>B. hominis</i> frente al nitaxozanida (n=24).....	22
10. Ajuste del modelo Probit para la susceptibilidad antiparasitaria in vitro de <i>B. hominis</i> frente a la nitaxozanida.....	22
11. Susceptibilidad antiparasitaria in vitro de <i>B. hominis</i> frente a cotrimoxazol (n=24).....	23
12. Susceptibilidad antiparasitaria in vitro de <i>B. hominis</i> frente a eritromicina (n=24).....	24
13. Estimaciones del nivel de concentración de Metronidazol.....	35
14. Estimaciones del nivel de concentración de Nitaxozanida.....	36
15. Susceptibilidad antiparasitaria de <i>B.hominis</i> frente al metronidazol.....	37
16. Susceptibilidad antiparasitaria de <i>B.hominis</i> frente al Nitazoxanida.....	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura Nº	Págs.
1. Estimación de la concentración inhibitoria mínima 90 (CIM 90) y 50 (CIM 50) del metronidazol frente a <i>B. hominis</i> .....	22
2. Estimación de la concentración inhibitoria mínima 90 (CIM 90) y 50 (CIM 50) de la nitaxozanida sobre <i>B. hominis</i> .....	23
3. Preparación de la solución de Locke modificada para cultivar <i>B. hominis</i> . .....	38
4. Crecimiento de <i>B.hominis</i> en los cultivos .....	38
5. Crecimiento de <i>B.hominis</i> en los cultivos .....	38
6. Viabilidad y Muerte de <i>B.hominis</i> en los cultivos, observados con Trypan blue.....	38
7. Endodiogenia de <i>B.hominis</i> en los cultivos.....	38
8. Endodiogenia de <i>B.hominis</i> en los cultivos.....	38
9. Diferentes formas de <i>B.hominis</i> obtenidos de los cultivos positivos. (A) Forma granular, vacuolar, división (B) Forma ameboide, (C) Forma granular, (D) Forma vacuolar .....	39
10.Preparación de las baterías para la prueba de susceptibilidad .....	39
11.Crecimiento de <i>B. hominis</i> frente al Metronidazol.....	39
12.Crecimiento de <i>B. hominis</i> frente a la Nitazoxanida .....	40
13.Crecimiento de <i>B. hominis</i> frente a eritromicina.....	40
14.Muerte de <i>B.hominis</i> en la prueba de susceptibilidad.....	40
15.Crecimiento de <i>B. hominis</i> frente al metronidazol .....	40
16.Crecimiento de <i>B. hominis</i> frente al Trimetropim/Sulfametaxazol .....	40
17.Crecimiento de <i>B. hominis</i> en las pruebas de control .....	40

## RESUMEN

El presente estudio de investigación se realizó con el objetivo de determinar la prevalencia y susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *B. hominis* aislados de pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque Noviembre 2014 – Mayo 2015. Este estudio fue de tipo descriptivo observacional, experimental. Se trabajó para la prevalencia con 432 muestras de heces aislado de pacientes mayores de 1 año, que fueron procesadas mediante las técnicas diagnósticas, Examen Microscópico Directo (EMD) y Cultivo Parasitológico (solución de Locke modificado). Así mismo a 24 cepas de cultivo, se les realizó la prueba de susceptibilidad antiparasitaria in vitro a 4 fármacos: metronidazol, nitaxozanida, Trimetropim/ sulfametaxazol, Eritromicina. Esta prueba se realizó con el método de microcultivo en solución de Locke modificado, en microtubos con 100uL del medio sin fármacos (control) y con fármacos en 10 concentraciones, desde 256ug/mL hasta 0,50ug/mL; y se incubaron a 36°C por 48 horas, la lectura por EMD comparó el desarrollo en el medio control con el desarrollo en los pocitos conteniendo los fármacos. Obteniendo como resultado el 35,2% de prevalencia para *B. hominis*, predominando el género femenino quien aportó 20,4%, grupo etario entre 30-59 años aportó 12.3%, el color marrón de las heces aportó 15,5%, consistencia blanda de heces aportó 28.9%, lugar de procedencia Chiclayo aportó 15.5% de casos positivos. En la susceptibilidad antiparasitaria in vitro se obtuvo para *B. hominis* con metronidazol CIM90= 3.19ug/mL y CIM50= 1.60ug/ mL; para *B. hominis* con nitazoxanida CIM90= 11,19ug/mL y CIM50= 6,03ug/mL; en cuanto a la susceptibilidad del parásito a los fármacos Trimetropim/sulfametaxazol y eritromicina, se observó que la CIM90 y CIM50 fueron superiores a 256 ug/mL, que fue la máxima concentración ensayada de los fármacos en el experimento. Concluyo que *B. hominis* es prevalente en pacientes atendidos en el HRL y muestra un comportamiento de susceptibilidad frente metronidazol y nitaxozanida, que puede ser utilizado para el tratamiento y vigilancia de resistencia de este protozoo. Palabras clave: Prevalencia, Prueba de susceptibilidad antiparasitaria, concentración inhibitoria mínima, *Blastocystis hominis*.



## I. INTRODUCCIÓN

La blastocystosis es una enfermedad producida por el enteropatógeno *Blastocystis hominis*. Considerado un patógeno emergente, por que habita normalmente en la flora intestinal (Tan et al., 2010). Es pleomórfico, caracterizado por presentar cuatro formas morfológicas vacuolar, granular, ameboide y quística. (Salinas et al., 2007; Velarde et al., 2006; Kozubsky et al., 2010).

Reportes indican que *B. hominis* puede causar síntomas, cuando se presenta en un número superior o igual a 5 *B. hominis* por campo de 400 aumentos y que en ausencia de otros patógenos justificaría el tratamiento farmacológico (Zierdt 1991; Biolley et al., 1993).

Los síntomas de esta infección no son específicos e incluyen: diarrea, dolor abdominal, cólicos y náuseas. Otros síntomas son la fatiga, anorexia y flatulencia. También se describen leucocitosis fecal, sangrado rectal, eosinofilia hepatoesplenomegalia, reacciones alérgicas tipo "rash" cutáneo y prurito (Garavelli et al., 1991). Se sabe que la Blastocystosis afecta a países en desarrollo el 30-50% y el 10-15% en países desarrollados (Ashford y Atkinson 1992; Doyle et al., 1990).

No obstante, en Chiclayo aún se desconoce la prevalencia y distribución de la Blastocystosis. Varias comunidades de esta zona, viven en estado de pobreza y desnutrición, algunos cuentan con pobres condiciones higiénicas sanitarias y tienen poco acceso a la educación.

Asimismo, la susceptibilidad antiparasitaria de *B.hominis* frente a los fármacos antiprotozoos no se ha estudiado aún en detenimiento, habiendo vacíos de conocimiento en los fármacos de elección y dosis para asegurar el tratamiento eficaz.

Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son de importancia médica, en muchos casos vitales para la salud del paciente. Conociendo el agente causal y su comportamiento frente a los fármacos, permite un tratamiento dirigido contra los mismos con drogas a las cuales el microorganismo ha sido demostrado ser

sensible. En la literatura médica especializada, las pruebas de susceptibilidad in vitro para *B. hominis*, ha sido publicada escasamente (Stenzel et al., 1996; Cedillo et al., 2002).

En tal sentido el propósito del presente estudio es determinar la prevalencia y la susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *B. hominis* aislados de pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque.

## II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

Zierdt et al., (1967) Llegaron a la conclusión que *B. hominis* es un protozooario polimórfico que causa la blastocystosis, una parasitosis intestinal de reciente aceptación; sin embargo todavía persisten muchas controversias e incógnitas.

Johnson et al., (1989) Demostraron a finales de los ochenta, mediante la secuenciación génica de la subunidad menor ribosomal del ARN (ssARNr), que *B. hominis* debería ocupar un lugar dentro del Reino Chromista, en el que también se encuentran diatomeas, oomicetos y algas marrones.

Garavelli et al., (1991) Llegaron a la conclusión que *B. hominis* es considerado un patógeno controversial que ocasiona manifestaciones gastrointestinales y generales inespecíficas como: diarrea, dolor abdominal, distensión abdominal, flatulencia, cólico, estreñimiento, prurito perianal, malestar o molestias intestinales, tenesmo, esteatorrea y leucocitos fecal, y no intestinales como: náuseas, mareos, pérdida de peso, vértigo, anorexia y fiebre, estas manifestaciones parecen estar asociadas a los siguientes factores: (a) número de parásitos, (b) inmunosupresión y pacientes inmunocomprometidos, (c) relación con sintomatología gastrointestinal y no intestinales.

Zierdt, 1991 Afirmando que la forma vacuolar que presenta *B. hominis* es el que abunda en los cultivos celulares.

Stenzel y Boreham (1996) mencionaron que *B. hominis* es un parásito anaerobio estricto, difícil para su aislamiento, costoso, requiere mucho tiempo y personal especializado lo cual se plantea como un factor limitante para estudiar al parásito y la posibilidad de realizar pruebas de susceptibilidad antiparasitaria sería más difícil. Por tal motivo los laboratorios de centros hospitalarios incluyendo el Hospital Regional Lambayeque, usualmente no se realiza dichas pruebas para *B. hominis*. Además estos mismos autores consideraron como drogas útiles para el tratamiento de *B. hominis* al metronidazol y como alternativa al trimetopim/sulfametaxazol.

Moe et al., (1996) Demostraron que para identificar en el laboratorio clínico a *B. hominis* se realiza a través de una preparación húmeda con solución salina fisiológica y lugol, el cual permite observar la morfología del parásito.

Lanuza et al., (1997) Determinaron que entre los medios idóneos para cultivar *B. hominis* está el medio bifásico de Boeck-Drbohlav (MBDM), que contiene una fase líquida constituida por una solución tamponada y suero inactivado (bovino, caballo, conejo o humano).

La susceptibilidad antiparasitaria de *B. hominis* ha sido escasamente probado, en parte debido a la dificultad para obtener el parásito en cultivo in vitro. Atias, (1997) Realizó ensayos con numerosas drogas mediante pruebas de susceptibilidad in vitro obteniéndose buenos resultados: Emetina, Metronidazol, Furazolidona, Cotrimoxazol, 5-cloro-8hidroxiquinolina y pentamidina.

Stenzel y Boreham, (1998) Demostraron que *B. hominis* tiene otras formas menos frecuentes, como son avacuoladas y multivacuoladas, aunque no se sabe con exactitud los fenómenos que propician la variabilidad en su morfología. Los mismos autores también demostraron que la forma granular es comúnmente vista en cultivos no axenicos, mide 6.5 – 80 µm. La forma ameboide, es raramente reportada en pacientes con diarrea, presenta uno o dos pseudópodos, mide entre 10 - 15 µm. La forma quística es la forma más pequeña, mide 2 - 5 µm por lo que puede ser confundida con detritus en las heces, pueden ser ovoides o esféricas y se encuentra protegida por una pared quística multilaminar, su citoplasma puede contener de 1 a 4 núcleos y pequeñas vacuolas. La gran variabilidad observada en medios de cultivo determina que los resultados provenientes de estos ensayos pueden dar origen a interpretaciones erróneas de la biología celular de este protozooario. Además dijeron que para la extracción y amplificación del ADN que presenta *B. hominis* se realiza mediante la reacción de cadena de la polimerasa (PCR).

Giacometti et al., (1999) Determinaron que *B. hominis* se encuentra identificado en asociación a dos enfermedades gastrointestinales crónicas, muy comunes en países desarrollados, siendo el síndrome del colon irritable (IBS) y la enfermedad inflamatoria del intestino.

Haresh et al., (1999) Llevaron a cabo un estudio en 25 muestras de heces obtenidas de pacientes atendidos en el servicio de gastroenterología del Hospital de la Universidad Aga Khan, las cuales fueron examinadas por microscopia y cultivadas, además estos mismos autores llevaron a cabo pruebas de sensibilidad a los medicamentos para el metronidazol, furazolidona, y ciprofloxacino usando concentraciones de 0,01 mg / ml y 0,1 mg/ml. obteniendo como resultado la resistencia de *B. hominis* a la furazolidona de 32% (8/25), metronidazol 40% (10/25) y ciprofloxacino de 100% (25/25), respectivamente. *B. hominis* vario en su grado de susceptibilidad a los tres fármacos estudiados, siendo mayor con furazolidona que con metronidazol, y la resistencia completa con ciprofloxacino.

Lazarte et al., (1999) Evaluaron el efecto de metronidazol y secnidazol en 60 pacientes que presentan infección por *B. hominis*, los cuales recibieron tratamientos en concentraciones diferentes (metronidazol 250 mg, metronidazol 750 mg y 2g como dosis única). Al mes del tratamiento se evaluó con examen parasitológico seriado de heces, obteniendo como resultado la disminución de *B. hominis* en 15%. Por ello podemos plantear que si se presenta infección por *B. hominis* sintomática esta puede ser tratada con Secnidazol o Metronidazol. Por lo consiguiente se deben realizarse o llevarse a cabo estudios prospectivos a doble ciego para poder reforzar este hallazgo.

Devera et al., (2000) Determinaron que las formas vacuoladas (aproximadamente 5 µm) y multivacuoladas (5- 8µm) son observadas con menos frecuencia. A demás estos mismos autores señalaron que *B. hominis* en casos severos presenta síntomas como rash cutáneo, colitis, entre otros.

Zerpa et al., (2000) concluyeron que el medio de Pavlova, es un medio monofásico, descrito por algunos autores como de elección para cultivar *B. hominis*, aunque sus ventajas comparativas no han sido claramente demostradas. Además estos autores afirman que en nuestro medio se conocen algunas alternativas simples y de costo bajo para el cultivo de *B. hominis*, pero que aún no se ha publicado pruebas de susceptibilidad antiparasitaria in vitro.

Abe et al., (2002) Concluyeron que *B. hominis* es un enteropatógeno que habita en el tracto intestinal, de los seres humanos. Así mismo mencionaron que los animales silvestres y domésticos son reservorios para el parásito.

Barahona et al., (2002) Afirieron que pacientes que presentan infección por *B. hominis* con síndrome diarreico presentan manifestaciones alérgicas y artritis reactiva.

Clark y Diamond, (2002) Confirmaron que *B. hominis* puede obtenerse de cultivos bifásicos o monofásicos.

Tan et al., (2002) Determinaron que de acuerdo a la nueva clasificación, *B. hominis* es el primer cromista que parasita al hombre, y no es un hongo o protozoo, como antes se asumía. También concluyeron que el ciclo biológico del parásito comienza con la ingestión de sus quistes vehiculizados en agua o frutas y verduras contaminadas los cuales dan origen a formas vacuoladas que se localizan en el espesor de la capa superficial de la mucosa del colon para después formar nuevos quistes que constituyen el estadio infectante de *B. hominis*. Además estos mismos autores concluyeron que el principal y el más común tratamiento de la blastocistosis es el metronidazol, en dosis de 250- 750 mg diarios, según el peso del paciente, tres veces al día, durante 5-10 días. También se ha utilizado la nitazoxanida.

Rondón y Vargas, (2003) Concluyeron que la infección por *B. hominis* es transmitida principalmente vía fecal-oral, y se encuentra asociada a síntomas en 61,6% de los casos, mientras que en 41,6% es asintomático.

Suresh y Smith, (2004) Determinaron que existen varios métodos para la detección de *B. hominis* en muestras de heces, que incluyen técnicas de concentración (suspensiones salinas, concentración con formol-éter), de coloración (tinción de Romanowsky, coloración permanente de frotis fecales fijadas con solución de acetato de sodio-ácido acético-formol), cultivo in vitro. Además ellos llegaron a la conclusión que el medio de Jones es un medio monofásico ampliamente utilizado por su relativa simplicidad en la preparación y exigencias mínimas de mantenimiento de *B. hominis*.

Noel et al., (2005) Concluyeron que el hombre puede ser hospedador de diferentes subtipos (ST) de Blastocystis en mamíferos (subtipo 1), primates y cerdos (subtipo 2), roedores (subtipo 4), bovinos y cerdos (subtipo 5) y de aves (subtipos 6 y 7).

Stensvold et al., (2007) Concluyeron que la clasificación taxonómica de *B. hominis* ha sido incierta por muchos años. Además estos autores afirman que este parásito exhibe una gran diversidad genética, habiéndose identificado nueve subtipos (ST) o genotipos.

Tan, (2008) Afirmó que aún existe las controversias relacionadas a los ciclos de vida, mecanismos de transmisión y patogenicidad propuestos para *B. hominis*, así como la naturaleza propia del parásito y su papel patógeno primario. Además llegó a observar cuatro formas morfológicas que presenta *B. hominis* y son la forma vacuolar, granular, ameboide y quística, aunque la literatura describa hasta 6 formas morfológicas del parásito. También afirmó que la forma vacuolar es observada aproximadamente en 98% de los casos tratados en heces frescas y constituye la principal forma diagnóstica, mide 2-20µm, y es frecuentemente observada en cultivos.

Menounos et al., (2008) Afirmaron que los cultivos son considerados como «Gold Standard» para su detección de *B. hominis* ya que proporcionan suficiente ADN para llevar a cabo una tipificación molecular.

Tan et al., (2010) Concluyeron que *B. hominis* ha sido descrito desde los inicios del siglo veinte, pero recién en los últimos años se han hecho avances en el entendimiento de su biología. Debido a su naturaleza polimórfica y a la falta de estandarización de técnicas para su diagnóstico, existiendo confusión e interpretación errónea de los resultados. Además ellos determinaron que este parásito no parece ser muy patógeno en animales, aunque en humanos ha pasado a ser considerado un patógeno emergente, después de muchos años de ser considerado como habitante normal de la flora intestinal. También determinaron que *B. hominis* mide entre 5 a 40 µm, carece de pared celular, y contiene mitocondrias, aparato de Golgi, y retículo endoplásmico liso y rugoso.

Parkar et al., (2011) Llegaron a la conclusión de que las personas que elaboran en estrecho contacto con animales tienen una probabilidad mayor de tener una infección por Blastocystis, llegándose a demostrar en guardianes de zoológicos.

Los hallazgos obtenidos en modelos experimentales y en humanos infectados evidencian la necesidad de caracterizar morfológicamente a *B.*

*hominis* provenientes de pacientes con síntomas y en portadores sanos, a fin de optimizar el reporte diagnóstico en función del comportamiento patogénico o comensal del parásito, identificando y cuantificando las morfologías predominantes en cada grupo de pacientes.

Zerpa et al., (2012) Realizaron un trabajo con 64 cultivos de *B.hominis* frente a cinco antimicrobianos: metronidazol, cotrimoxazol, tetraciclina, furazolidona y ciprofloxacina, en niños con diagnóstico de parasitosis intestinal atendidos en el instituto de medicina tropical Daniel Alcides Carrión. Utilizando para esto el medio de Pavlova modificado. Además las pruebas de susceptibilidad in vitro se realizaron con el método de microcultivos en el medio de Pavlova modificado, en pocitos con 200 uL del medio sin antiparasitarios (control) y con antiparasitarios en 10 concentraciones, desde 128 ug/mL hasta 0,25 ug/mL. Obteniendo como resultado para *B. hominis*, con metronidazol CIM 90: 64 ug/mL y CIM 50: 2 ug/mL, para furazolidona CIM 90: 8 ug/mL y CIM 50: 1 ug/mL, para cotrimoxazol CIM 90: 128 ug/mL y CIM 50: 64 ug/mL, para ciprofloxacina CIM 90: 128 ug/mL y CIM 50: 16 ug/mL y para Tetraciclina CIM 90: 128 ug/mL y CIM 50: 32 ug/mL.

La prevalencia de *B. hominis* en América Latina es variable, desde 1.4% en algunas regiones de México hasta 92% en regiones de Perú (Tabla 01).

Tabla 01. Prevalencia de *Blastocystis hominis* en América.

País	Región	Muestra	Prev. %	Referencias
México	Xochimilco	74(niños)	41,7	Rodríguez et al., 2008
	DF		4,6	
	Guadalajara		1,4	
	Chipancingo		22,4	
	Tixtla de Guerrero		39,4	
Colombia	Calarcá	220(niños)	36,5	Gómez et al., 2008
Venezuela	Maracaibo (Zulia)	74(niños)	80,6	Acurero et al., 2013
Venezuela	Santa rosa- Maracaibo- Zulia	111(Todas edades)	45,6	Rivero et al., 2013
Venezuela	Estado Bolívar	105(niños)	26,7	Devera et al., 1998
Venezuela	Estado Bolívar "los coquitos"	169(niños)	29,1	Devera et al., 2007
Venezuela	San Diego "los Magallanes"	252(niños)	85,2	Bermúdez et al., 2011
Perú	Puno	91(niños y adultos)	9,9	Flores et al., 2002
Perú	Lima- Villa El Salvador	144(niños)	92,31	Terashima et al., 1998
Perú	Lima	108 (niños)	34,3	Pajuelo et al., 2005
Perú	Amazonas (Población nativa)	1049	28,4	Ibáñez et al., 2004



Debido a la importancia que ha cobrado *Blastocystis* como patógeno emergente, se están desarrollando distintas líneas de investigación, donde se requiere disponer de un gran número de estos microorganismos, ya sea para el desarrollo de modelos de infección experimental, preparación de antígenos para pruebas inmunodiagnósticas y elaboración de vacunas, así como para el desarrollo de pruebas moleculares de diagnóstico y genotipificación.

### III.MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1. MATERIAL

##### 3.1.1. Material biológico

El material biológico estuvo constituido por heces positivas a *Blastocystis hominis* procedentes de pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque – Chiclayo.

##### 3.1.2. Población y muestra de estudio

###### Población

La población para el estudio de prevalencia estuvo constituida por los pacientes mayores de un año de edad atendidos en el Laboratorio de Parasitología del Hospital Regional Lambayeque, durante febrero a abril del 2015. Ésta población fue conocida y se obtuvo en base a los pacientes que figuran en los registros de admisión, los cuales suman aproximadamente 500 al mes. Por lo tanto se consideró una población de 1500.

Mientras que, la población para la prueba de susceptibilidad estuvo constituida por las cepas aisladas en cultivo.

###### Tamaño de muestra

En cuanto al estudio de prevalencia se consideró un tamaño de muestra de 432. Este número se calculó usando la fórmula estadística para estimar una diferencia proporcional cuando la población es conocida. Se usó un nivel de confianza de 95%, un error máximo de 5% y una proporción de referencia de 0.28 (según un estudio de referencia realizado por Ibañez et al., 2004). El diseño de muestreo fue aleatorio simple.

$$n = \frac{Z^2 pq N}{N E^2 + Z^2 p}$$

Donde:

n= Tamaño de muestra

N= Población (1500)

p= 0,28

q= 1 – p

E= Error (0,05)

Z= 1,96 (95%)

En tanto que para el estudio de la susceptibilidad antiparasitaria, el tamaño de muestra fue no probabilístico y estuvo constituida por 24 cepas aisladas por cultivo, las cuales se seleccionaron aleatoriamente.

### **3.1.3. Reactivos**

- Lugol
- Solución salina fisiológica
- Agua destilada
- Suero fetal bovino (SFB)
- 40g de Cloruro de sodio
- 20g de Cloruro de calcio
- 20g de Cloruro de potasio
- 20g Cloruro de magnesio
- 20g de Fosfato de sodio (bibásico)
- 20g Bicarbonato de sodio
- 20g Fosfato de potasio (monobásico)
- Fármacos: Metronidazol, Trimetroprim-Sulfametaxazol, Nitaxozanida, Eritromicina, Penicilina G, Estreptomicina, Gentamicina.

### **3.1.4. Material de laboratorio**

- Laminilla cubre objeto
- Lamina porta objeto
- Microtubos polipropileno de 2ml
- Puntas para Micropipetas
- Paletas baja lengua
- Frascos recolectores

- Frascos de vidrio de boca ancha
- Guantes
- Espátula

#### **3.1.5. Equipos e instrumentos**

- Microscopios
- Refrigeradora
- Incubadora
- Autoclave
- Balanza analítica
- Cocina eléctrica
- Horno
- Cabina de bioseguridad
- Micropipetas automáticas
- Jarra de Brewer

### **3.2 METODOLOGÍA**

#### **3.2.1. Tipo de estudio y diseño de contrastación de la misma**

La presente investigación fue un estudio descriptivo observacional (estudio de prevalencia) y experimental (estudio de susceptibilidad antiparasitaria). Y para contrastar la hipótesis se utilizó el diseño de una y doble casilla. La investigación se realizó en dos etapas. En la primera se determinó la prevalencia, para el cual, se determinó la prevalencia de *Blastocystis hominis* presentes en las heces de los pacientes mediante examen directo y cultivo in vitro. En la segunda etapa, se realizó las pruebas de susceptibilidad antiparasitaria de *B. hominis* frente a los fármacos: metronidazol, nitaxozanida, trimetropim/ sulfametoxazol y eritromicina

#### **3.2.2. Lugar de muestreo**

Para la prevalencia y susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *B. hominis*, se recolectaron muestras seriadas de 432 pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque de la provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque. La provincia de Chiclayo limita por el Norte con Lambayeque y Ferreñafe, por el Sur con la Libertad, por el Este con Cajamarca y por el

Oeste con el Océano Pacífico, esta campaña de obtención de muestras se realizara en los meses de febrero a abril del 2015.

### **3.2.3. Toma de muestras**

Para la toma de muestras se siguió las recomendaciones del manual de parasitología del Instituto Nacional de Salud (INS), según Beltrán et al., (2003); que consistió en recolectar 3-6 gramos de heces en frascos de boca ancha estériles con tapa rosca, las cuales reunieron las condiciones óptimas (no estar mezclado con orina, que no exista el antecedente de haber ingerido bario u otros productos de contraste, y llevar la muestra al laboratorio en corto tiempo de 2 - 4 horas de su obtención). Luego las muestras fueron registradas en una ficha de recolección de datos (Anexo 01) y transportadas de inmediato al laboratorio de parasitología del Hospital Regional Lambayeque para ser procesadas. Cumpliendo las medidas de bioseguridad.

### **3.2.4. Diagnóstico microscópico de *Blastocystis hominis***

Para el diagnóstico microscópico de *B. hominis* se siguió las recomendaciones del manual de parasitología del Instituto Nacional de Salud. (Beltrán et al., 2003), que consistió en evaluar las características morfológicas de las muestras de heces que llegaron al laboratorio de parasitología.

Para esto se colocó a un extremo de la lámina portaobjeto una gota de suero fisiológico y con ayuda de un aplicador, se agregó 1 a 2 mg de materia fecal, la cual fue emulsionada y cubierta con una laminilla cubreobjeto. A sí mismo al otro extremo de la lámina portaobjeto se colocó, una gota de lugol y se procedió a aplicar la muestra fecal como en el párrafo anterior. Luego fueron observadas al microscopio a 100 ó 400 aumentos, seguido a lo anterior se anotaron en un cuaderno de registro el nombre del parásito y su estadio evolutivo, indicando la densidad (número de formas parasitarias por campo microscópico) expresado en números. Posteriormente las muestras positivas para *B. hominis* fueron seleccionadas para su posterior cultivo.

### 3.2.5. Cultivo de *Blastocystis hominis*

Para cultivar a *B. hominis* se siguió el protocolo de microcultivo realizado por Zerpa et al., 2012, al cual se le realizaron algunas modificaciones; consistió en preparar la solución de Locke modificado conteniendo los fármacos y se guardaron en microtubo de polipropileno de 2 ml al refrigerador para su posterior uso.

La solución de Locke se preparó de la siguiente manera:

- ❖ En un matraz de 1000ml, que contiene 1000ml de agua destilada se le agrego las siguientes sales: cloruro de sodio 8.0g, cloruro de calcio 0.2g, cloruro de potasio 0.2g, cloruro de magnesio 2.0g, fosfato de sodio (bibásico) 0.01g, bicarbonato de sodio 0.4g, fosfato de potasio (monobásico) 0.3g; luego se homogeniza.
- ❖ Luego se hirvió durante 10 minutos con el fin de obtener un precipitado, dejándose enfriar a temperatura ambiente.
- ❖ Posteriormente se filtró por papel filtro y fue llevado a autoclave durante 15 minutos a 15 libras de presión, dejándose enfriar a temperatura ambiente.
- ❖ Posteriormente para 100 mL de medio, se agregó polvo de almidón de arroz estéril 100 mg, penicilina G a razón de 1000 UI/mL (200ul de penicilina G a 500 000 UI/mL), estreptomicina a razón de 200 ug/mL (1 ml de estreptomicina a 20 000 ug/mL), gentamicina a razón de 200 ug/mL (250 ul de gentamicina a 80 000 ug/mL) y suero fetal bovino (SFB) a razón 5% (5 ml).
- ❖ Finalmente el medio se sirvió en microtubos de 2mL de capacidad a razón de 1mL y se refrigero hasta su uso.

Posteriormente se inculo aproximadamente 100ul de muestra de heces en el fondo de cada microtubo y se procedió a incubar a 36 °C y 5% de CO<sub>2</sub>. Pasado este tiempo se realizaron lecturas de los cultivos a las 24, 48, 72 horas, para ello se hicieron preparaciones de montajes de láminas usando la micropipeta para tomar 10ul de muestra del fondo de cada microtubo y 10ul de colorante Trypan blue el cual nos permitió estimar la

viabilidad del parásito, emulsionamos y se observó al microscopio con objetivos de 100 y 400 aumentos.

Los cultivos positivos para *B. hominis* fueron mantenidos con repicajes cada 3 días, utilizando la solución de Locke modificada.

### 3.2.6. Prueba de susceptibilidad antiparasitaria in vitro

Para la prueba de susceptibilidad in vitro de *B. hominis* se siguió el protocolo del método de microcultivo descrito por Zerpa et al., 2012, al cual se realizaron algunas modificaciones. Se usaron los siguientes fármacos a fin de evaluar su efecto antiparasitario frente a *B. hominis*: Metronidazol, Nitazoxanida, Trimetoprim/Sulfametaxazol y Eritromicina.

Los fármacos antes mencionados fueron pesados según corresponda y homogenizados con el diluyente. Luego fueron agregadas a la solución de Locke, de tal manera de obtener 10 concentraciones de cada droga, desde 256 ug/ml hasta 0,50 ug/ml (256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5). Los fármacos se obtuvieron comercialmente en polvo y se prepararon usando el siguiente protocolo:

❖ Se pesaron en balanza analítica usando las siguientes fórmulas:

(A) Fórmula para determinar la cantidad de antimicrobiano en polvo:

$$\text{Pesada del ANT (mg)} = \frac{\text{Volumen de SE (mL)} \times \text{Concentración de SE (mg/mL)}}{\text{Potencia del ANT (mg/mg)}}$$

(B) Fórmula para determinar el volumen de la solución estándar:

$$\text{Volumen de SE (mL)} = \frac{\text{Pesada de ANT (mg)} \times \text{Potencia de ANT (mg/mg)}}{\text{Concentración de SE (mg/mL)}}$$

ANT:  
Antibiótico

SE: Solución estándar.

- ❖ Luego se prepararon las soluciones madres a por lo menos 10 veces la concentración de uso (2560 ug/mL). Considerando que la concentración más alta probar será de 256 ug/mL.

Utilizando diluciones dobles se prepararon las 10 concentraciones usando la solución de Locke modificada como medio base.

El inóculo fue preparado a partir de un cultivo de 48 horas en solución de Locke modificado. Posteriormente se ajustó a una concentración de 250 000 cel/mL, que es aproximadamente 10-12 cel/campo microscópico a 100 aumentos. Esta concentración se determinó por recuento en cámara de Neubauer usando el colorante de Trypan blue en relación 1:1.

Los inóculos de cada cepa y medios con los fármacos a probar fueron atemperados antes de iniciar la siembra.

Posteriormente, 40 uL del inóculo homogenizado fue dispensado en cada uno de los medios sin fármaco (control) y con fármaco (10 concentraciones de cada uno). Las siembras se incubaron a 36 °C y 5% CO<sub>2</sub> durante 48 horas, después del cual se realizaron las lecturas.

La lectura se realizó por observación microscópica directa a 100 aumentos, colocando 10 ul de los cultivos más 10 ul de trypan blue. La inhibición del crecimiento se determinó comparando el desarrollo del parásito en el microtubo control con los que contienen los fármacos. La CIM fue aquella mínima concentración del fármaco que logro inhibir completamente el crecimiento de *Blastocystis hominis* en cultivo; en forma similar al método utilizado en el estudio de bacterias (método de dilución en caldo).

### **3.2.7. Procesamiento de datos**

En el presente trabajo de investigación se utilizó para la digitación el programa de Microsoft Word Profesional 2010 y para el procesamiento de datos se utilizó Microsoft Excel XP 2010.

### **3.2.8. Análisis de datos**

Para el análisis estadístico se utilizó el software SPSS 22.0 e Infostat/E. La prevalencia se calculó teniendo en cuenta la proporción que representaron los casos positivos respecto al total de muestras. Asimismo se



calculó el intervalo de confianza para la proporción. En cuanto al estudio de la susceptibilidad antiparasitaria, se aplicó el análisis probit (concentración del antiparasitario contra inhibición del crecimiento), con la finalidad de determinar la concentración inhibitoria mínima 90 y 50 (CIM 90 y CIM 50); que representa la concentración mínima de fármaco necesaria para inhibir el 90 y 50% de las cepas de *Blastocystis hominis* respectivamente. También se calcularán los límites de confianza de las CIM 90 y CIM 50 para cada fármaco probado. En ambos casos se considerará significativo un nivel de  $P < 0.05$ .

## IV. RESULTADOS

Participaron en el estudio 432 pacientes mayores de 1 año, atendidos en el Hospital Regional Lambayeque, cuyas muestras fueron procesadas mediante el Examen Microscópico Directo y cultivo parasitológico. Así mismo a 24 cepas de cultivo seleccionados aleatoriamente, se les realizó la prueba de susceptibilidad Antiparasitaria in vitro a 4 fármacos.

### IV.1. PREVALENCIA

De las 432 muestras, 152 resultaron positivas para *Blastocystis hominis*, representando una prevalencia global de **35,2% (IC 95% 30,69 a 39,69)**.

En la muestra estudiada se observó ligero predominio del género femenino (52,8%) quienes, además, aportaron 20,4% (88/432) de casos positivos, en comparación al 14,8% (64/432) del masculino (Tabla 01).

**Tabla 01.** Prevalencia de *B. hominis* en pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque distribuidos según género. Lambayeque, Perú. Noviembre 2014 – Mayo 2015.

Género	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	N	%
Femenino	88	20,4	140	32,4	228	52,8
Masculino	64	14,8	140	32,4	204	47,2
Total	152	35,2	280	64,8	432	100

Así mismo el grupo etario de entre 30 - 59 años representó la mayoría de la población estudiada (35,2%), con un aporte de 12.3% (53/432) de casos positivos (Tabla 02).

**Tabla 02.** Prevalencia de *B. hominis* en pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque distribuidos según grupo etario. Lambayeque, Perú. Noviembre 2014 – Mayo 2015.

Grupo etario ( años)	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	N	%
11 a menos	30	6,9	93	21,5	123	28,5
12 a 17	8	1,9	23	5,3	31	7,2
18 a 29	30	6,9	40	9,26	70	16,2
30 a 59	53	12,3	73	16,9	126	29,2
60 a más	31	7,2	51	11,8	82	19,0
Total	152	35,2	280	64,8	432	100

Distribución de grupo etario según OMS

En cuanto al color de heces, el amarillo resulto ser el más frecuente (38,1%), seguido del marrón 37,7%, siendo este último el que se encontraron el mayor número de casos positivos 15,5% (67/432) (Tabla 03).

**Tabla 03.** Prevalencia de *B. hominis* en pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque distribuidos según color de heces. Lambayeque, Perú. Noviembre 2014 – Mayo 2015.

Color heces	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	N	%
Amarillo	55	12,7	110	25,4	165	38,1
Marrón	67	15,5	96	22,2	163	37,7
Pardo	25	5,8	53	12,3	78	18,1
Verde	5	1,2	21	4,9	26	6,1
<b>Total</b>	<b>152</b>	<b>35,2</b>	<b>280</b>	<b>64,8</b>	<b>432</b>	<b>100</b>

Distribución de la consistencia de heces según manual de procedimientos de parasitología laboratorio de bioanálisis región Veracruz.

En la muestra en estudio se observó predominio de heces con consistencia blanda (78.9%), los mismos que aportaron 28.9% (125/432) de casos positivos (Tabla 04)

**Tabla 04.** Prevalencia de *B. hominis* en pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque distribuidos según consistencia de heces. Lambayeque, Perú. Noviembre 2014 – mayo 2015.

Consistencia heces	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	N	%
Blanda	125	28,9	216	50,0	341	78,9
Dura	19	4,4	22	5,1	41	9,5
Líquida	8	1,9	42	9,7	50	11,6
<b>Total</b>	<b>152</b>	<b>35,2</b>	<b>280</b>	<b>64,8</b>	<b>432</b>	<b>100</b>

Así mismo, los pacientes de la provincia de Chiclayo representó la mayoría de la muestra estudiada (43.98%), con un aporte de 15.51% (67/432) de casos positivos (Tabla 05).

**Tabla 05.** Prevalencia de *B. hominis* en pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque distribuidos según lugar de procedencia. Lambayeque, Perú. Noviembre 2014 – mayo 2015.

Lugar procedencia	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	N	%
Chiclayo	67	15,51	123	28,47	190	43,98
Ferreñafe	54	12,50	71	16,44	125	28,94
Lambayeque	31	7,18	86	19,91	117	27,08
<b>Total</b>	<b>152</b>	<b>35,19</b>	<b>280</b>	<b>64,81</b>	<b>432</b>	<b>100</b>

El análisis bivariado de asociación entre la edad, género, procedencia y características fecales con *B. hominis* se muestra en la tabla 06. Se demostró que las personas mayores de 30 años presentaron mayor probabilidad de presentar *B. hominis* respecto a los de menor edad ( $p=0,014$ ). Asimismo, inesperadamente se observó que la consistencia líquida de las heces tuvieron menor probabilidad de contener *B. hominis* a diferencia de la consistencia blanda ( $p=0.005$ ; OR=0,33) respectivamente.

**Tabla 06.** Características asociadas a *B. hominis* en pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque Noviembre 2014 – mayo 2015. N=432.

Variable	<i>B. hominis</i> /Total (%)	Odds ratio [IC 95%]	Valor P
<b>Género</b>			
Masculino	64/204 (31,37)	0,73 [0,49- 1,08]	0,117
Femenino	88/228 (38,60)	1,00	
<b>Grupo etario</b>			
12 a 17	8/31 (25,81)	1,08 [0,44 - 2,66]	0,014
18 a 29	30/70 (42,86)	2,33 [1,24 - 4,35]	
30 a 59	53/126 (42,06)	2,25 [1,31 – 3,87]	
60 a más	31/82 (37,80)	1,88 [1,03 - 3,46]	
11 a menos	30/123 (24,39)	1,00	
<b>Color de heces</b>			
Amarillo	55/165 (33,33)	1,06 [0,60 - 1,88]	0,112
Marrón	67/163 (41,10)	1,48 [0,84 - 2,61]	
Verde	5/26 (19,23)	0,50 [0,17 - 1,49]	
Pardo	25/78 (32,05)	1,00	
<b>Consistencia de heces</b>			
Dura	19/41(46,34)	1,45 [0,78 - 2,87]	0,005
Líquida	8/50(16,00)	0,33 [0,15 - 0,72]	
Blanda	125/341 (36,66)	1,00	
<b>Procedencia</b>			
Chiclayo	67/190 (35,26)	1,51 [0,91 - 2,51]	0,025
Ferreñafe	54/125 (43,20)	1,60 [0,97 - 2,65]	
Lambayeque	31/117 (26,50)	1,00	

Valor P según prueba de Chi cuadrado.

## IV.2. SUSCEPTIBILIDAD ANTIPARASITARIA

La susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *B. hominis* frente al metronidazol se muestra en la tablas 07 y 08 y figura 01, y frente a la nitaxozanida en la tabla 10 y 11 y figura 02. Se obtuvo una CIM 90 y 50 del metronidazol frente a *B. hominis* de 3,19 y 1,60 ug/mL respectivamente; mientras que la CIM 90 y 50 de la nitaxozanida fueron de 11,19 y 6,03 ug/mL respectivamente.

**Tabla 07.** Susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *B. hominis* frente al metronidazol (n=24).

Metronidazol (ug/mL)	Susceptibilidad	
	N	%
0,5	1	4
1	4	17
2	14	58
4	24	100
8	24	100
16	24	100
32	24	100
64	24	100
128	24	100
256	24	100

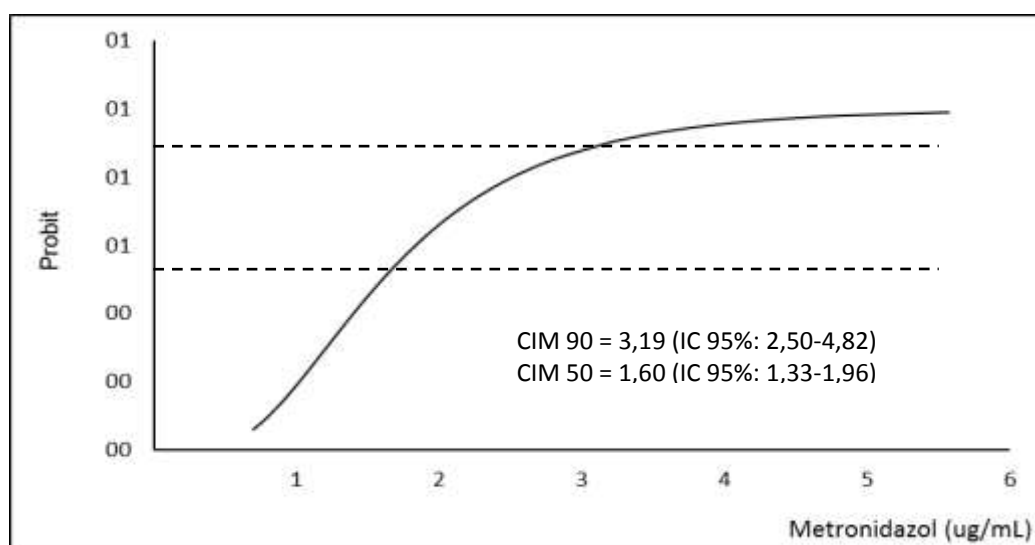
**Tabla 08.** Ajuste del modelo Probit para la susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *B. hominis* frente al metronidazol.

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	IC 95%	
					LI	LS
Concentración	4,296	0,709	6,054	<0,001	2,905	5,687
Intersección	-0,880	0,218	-4,036	<0,001	-1,098	0,662

Valor p=0,224

Como el valor  $p=0.224 > 0.05$  permite concluir que el Modelo Probit presentó un buen ajuste. Por lo que el modelo ajustado  $\Phi^{-1}(P) = -0,88 + 4,296 \cdot \log(\text{Concentración de Metronidazol})$ .

**Figura 01.** Estimación de la concentración inhibitoria mínima 90 (CIM 90) y 50 (CIM 50) del metronidazol frente a *B. hominis*.



**Tabla 9.** Susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *B. hominis* frente al nitaxozanida (n=24).

Nitaxozanida (ug/mL)	Susceptibilidad	
	N	%
0,5	0	0
1	1	4
2	3	13
4	9	38
8	19	79
16	23	96
32	24	100
64	24	100
128	24	100
256	24	100

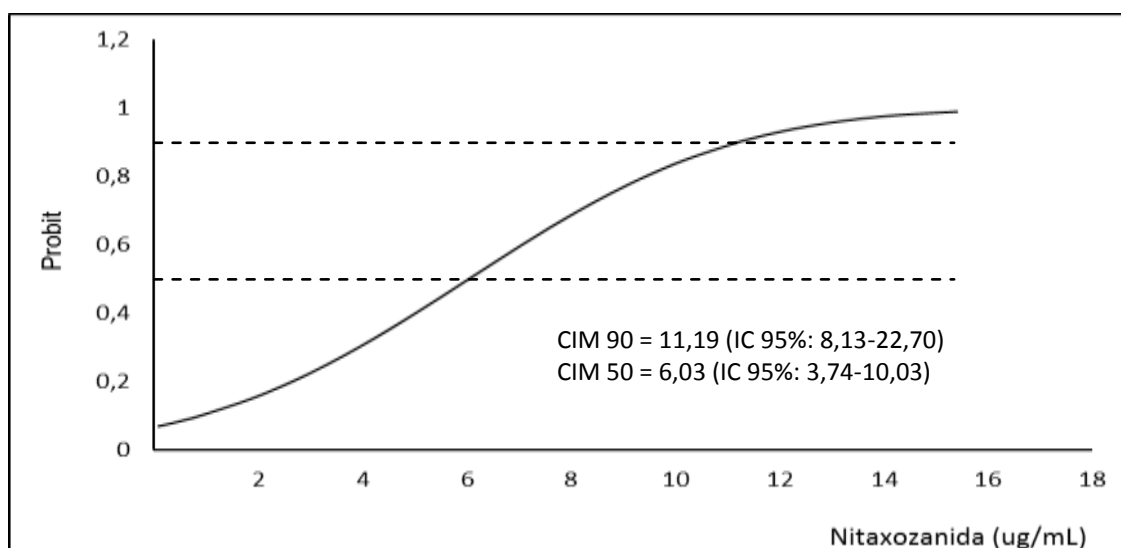
**Tabla 10.** Ajuste del modelo Probit para la susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *B. hominis* frente a la nitaxozanida.

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	IC 95%	
					LI	LS
Concentración	3,095	0,425	7,276	0	2,261	3,928
Intersección	-2,041	0,316	-6,45	0	-2,357	-1,724

Valor p= 0.911

Como el valor  $p=0.911 > 0.05$  permite concluir que el Modelo Probit presenta un buen ajuste. Por lo que el modelo ajustado  $\Phi^{-1}(P) = -2.041 + 3.095 \cdot \log(\text{concentración de Nitaxozanida})$ .

**Figura 02.** Estimación de la concentración inhibitoria mínima 90 (CIM 90) y 50 (CIM 50) de la nitaxozanida sobre *B. hominis*.



La susceptibilidad del parásito a los fármacos cotrimoxazol y eritromicina se muestran en las tablas 11 y 12 respectivamente. Se observó que la CIM 90 y CIM 50 fueron superiores a 256 ug/mL, que fue la máxima concentración ensayada de los fármacos en el experimento. Pues solo el 29% (7/24) y el 13% (3/24) de cepas de *B. hominis* fueron susceptibles a 256 y 128 ug/mL de cotrimoxazol respectivamente. De manera similar, solo el 8% (2/24) de cepas fueron susceptibles a 256 ug/mL de eritromicina.

**Tabla 11.** Susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *B. hominis* frente a cotrimoxazol (n=24).

Cotrimoxazol (ug/mL)	Susceptibilidad	
	N	%
0,5	0	0
1	0	0
2	0	0
4	0	0
8	0	0
16	0	0
32	0	0
64	1	4
128	3	13
256	7	29

**Tabla 12.** Susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *B. hominis* frente a eritromicina (n=24).

Eritromicina (ug/mL)	Susceptibilidad	
	N	%
0,5	0	0
1	0	0
2	0	0
4	0	0
8	0	0
16	0	0
32	0	0
64	0	0
128	0	0
256	2	8

## V. DISCUSIÓN

En todos los pacientes mayores de un año atendidos en el Laboratorio de Parasitología del Hospital Regional Lambayeque, se obtuvo 35,2% de prevalencia para *Blastocystis hominis*, siendo estos resultados superiores en comparación a los trabajos hechos en Perú; donde en Puno, Flores et al., (2002) reportaron 9,9%, en Lima Pajuelo et al., (2005) obtuvieron 34,3% en población general. Así mismo Ibañez et al., (2004) obtuvieron 28,4% en escolares de 6 a 15 años de edad en poblaciones nativas del Amazonas.

Sin embargo, la prevalencia de *B. hominis* en el presente estudio resultó ser menor respecto a otro estudio realizado por Terashima et al., (1998), quienes obtuvieron 92,31%. Esta diferencia podría deberse a las diferentes poblaciones en que se realizaron los estudios, siendo en esta última en niños.

Respecto a otros países de América latina, nuestros resultados son similares, no obstante algunos difieren significativamente. Al respecto, Rodríguez et al., (2005) reportaron 41,7%; 4,6%; 1,4%; 22,4%; 39,4% de prevalencia para *B. hominis* en niños aparentemente sanos de las regiones de Xochimilco, DF, Guadalajara, Chipancingo, Tixtla de Guerrero (México) respectivamente. De igual manera Gómez et al., (2008) determinaron que la prevalencia de *B. hominis* fue de 36,5% de 220 niños de la región de Calarcá (Colombia). Así mismo Acurero et al., (2013) determinaron la prevalencia de *B. hominis* de 74 niños de Maracaibo – Zulia (Venezuela), encontrando el 80,6% de casos positivos. Estas diferencias posiblemente se deban al tamaño de muestra y a la población infantil del estudio, mientras que aquí se trabajó con una muestra más robusta y en población general.

La prevalencia de *B. hominis* en el presente estudio fue inferior al obtenido en otro estudio realizado en Venezuela también en población general por Rivero et al., (2013), donde reportaron 45,6%. Asimismo Bermúdez et al., (2011), determinaron una prevalencia de *B. hominis* de 85,2% de 252 niños de la región de los Magallanes (Venezuela). Esta diferencia se debe a que se trabajó solo con niños, mientras que aquí se trabajó con población en general.



Mientras que, esta misma prevalencia fue superior en comparación con los estudios realizados en Latinoamérica, donde Devera et al., (1998) determinaron que la prevalencia de *B. hominis* en 105 niños escolares de Estado Bolívar, Venezuela, fue de 26,7%. De igual manera otra investigación realizada por Devera et al., (2007), determinaron que la prevalencia de *B. hominis* fue de 29.1% de 169 pacientes escolares de Estado Bolívar (Venezuela). Esta diferencia se debe a que Devera realizó su estudio en base a niños que están en etapa escolar, mientras que nuestro estudio se basó en población general, además el número de muestra utilizada fue de 432 a diferencia de ellos.

Por otro lado, las pruebas de susceptibilidad antiparasitaria in vitro para *Blastocystis hominis* mostraron un comportamiento distinto del parásito frente a cada fármaco, lo cual será de mucha utilidad en la eventual aplicación en tratamiento y vigilancia de resistencia farmacológica. La alta susceptibilidad de *B. hominis* frente a metronidazol (CIM 90: 3,19 ug/mL) y nitazoxanida (CIM 90: 11,19 ug/mL) y baja al cotrimoxazol y eritromicina, contrastan con los obtenidos por Atias (1997), donde obtuvo susceptibilidad a los fármacos emetina, metronidazol, furazolidona, cotrimoxazol, 5-cloro-8hidroxiquinolina y pentamidina mediante pruebas de susceptibilidad in vitro obteniendo también buenos resultados.

Asimismo estos resultados muestran diferencias con un estudio realizado por Zerpa et al., (2012) respecto a la susceptibilidad de *B. hominis* frente al metronidazol, donde reportaron una CIM 90: 64 ug/mL y CIM 50: 2 ug/mL, en comparación a la CIM 90: 3,19 ug/mL CIM 50: 1,60 ug/mL obtenidos en el presente estudio. Asimismo, en cuanto al cotrimoxazol Zerpa y colaboradores obtuvieron CIM 90: 128 ug/mL y CIM 50: 64 ug/mL, en comparación a la CIM 90: >256 ug/mL y CIM 50: > 128 ug/mL obtenidos en el presente estudio. Estos resultados podrían explicarse debido al distinto perfil de susceptibilidad de *B. hominis* estudiado, así como por la diferente presión selectiva que es sometido el parásito según la población estudiada. También es posible que las diferencias en los componentes de los medios de cultivo hayan inducido comportamientos distintos en ambos experimentos.

En nuestro estudio, la susceptibilidad antiparasitaria in vitro para *B. hominis* fue resaltante, comparando Haresh et al., (1999) llevaron a cabo un estudio en 25 muestras de heces, las cuales fueron examinadas por microscopia y cultivadas, obteniendo como resultado la resistencia de *B. hominis* a la furazolidona, metronidazol y ciprofloxacino en 0,01 mg / ml fue del 32% (8/25), 40% (10/25) y 100% (25/25) respectivamente, además varió en su grado de susceptibilidad a los tres fármacos estudiados, siendo mayor con furazolidona que con metronidazol, y la resistencia completa con ciprofloxacino, debido a que ellos usaron 2 concentraciones 0,01 mg / ml y 0,1 mg/ml, mientras que nosotros utilizamos 10 concentraciones desde 256 ug/ml hasta 0,50 ug/ml.

Nuestros resultados no pudieron compararse con el realizado por Lazarte et al., (1999), debido a que realizaron experimentos de eficacia in vitro en 66 pacientes con metronidazol y secnidazol a tres concentraciones (250 mg, 750 mg y 2g como dosis única), obteniendo como resultado la disminución de *B. hominis* en 15%. No obstante, el estudio in vivo mostro bajo porcentaje de disminución de la infección, lo que demuestra una relativa baja susceptibilidad del parásito a los fármacos en la población estudiada.

La CIM 90 y CIM 50 mayores de 256 ug/mL del cotrimoxazol y eritromicina, que fue la máxima concentración probada en el experimento, muestra la resistencia in vitro de *B. hominis* a los fármacos en mención. Estos hallazgos deberán validarse en experimentos in vivo, no obstante, los resultados obtenidos son importantes desde el punto de vista clínico y epidemiológico, debido a que el cotrimoxazol es de amplio uso médico en el tratamiento de enfermedad diarreica aguda en niños y adultos. Asimismo, la eritromicina es un macrólido de uso para el tratamiento de protozoos como *Cryptosporidium sp.*, sin embargo carece de acción frente a *B. hominis*. Estos resultados confirman una vez más que es necesario conocer la etiología de la enfermedad diarreica para proponer el tratamiento farmacológico adecuado y específico.

## VI. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en la presente investigación se concluye lo siguiente:

1. Se observó 35,2% de prevalencia para *Blastocystis hominis* en pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque (HRL), durante noviembre del 2014 a mayo del 2015.
2. *B. hominis* fue susceptible in vitro al metronidazol a una concentración mínima inhibitoria (CIM) 90 y CIM 50 de 3,19 y 1,60 ug/mL respectivamente; y a la nitaxozanida a una CIM 90 y CIM 50 de 11,19 y 6,03 ug/mL respectivamente. Mientras que para el cotrimoxazol y eritromicina la CIM 90 y CIM 50 fueron superiores a 256 ug/mL, que fue la máxima concentración probada.
3. *B. hominis* es prevalente en pacientes atendidos en el HRL y muestra un comportamiento de susceptibilidad frente a metronidazol y nitaxozanida, por lo que se recomienda su utilización para, el tratamiento y vigilancia de resistencia de este protozoo.

## VII. RECOMENDACIONES

Esperando que la presente investigación sirva para mejorar el estudio de *Blastocystis hominis* y sea la base para futuras investigaciones, se recomienda lo siguiente:

1. Caracterizar morfológica y molecularmente a *B. hominis* provenientes de pacientes con y sin enfermedad, para demostrar su relación que hay entre estos pacientes y así optimizar el reporte diagnóstico en función del comportamiento patogénico o comensal del parásito.
2. Caracterizar antígenos inmunodominantes en *B. hominis* con el fin de promover pruebas inmunodiagnósticas directas e indirectas.
3. Estudiar la susceptibilidad in vitro de *B. hominis* frente a otros fármacos antiprotozoos con el fin de evaluar su potencial de uso el tratamiento de la enfermedad.
4. Estudiar la eficacia in vivo del metronidazol y nitaxozanida con el fin de evaluar su utilidad en el paciente.
5. Promover charlas educativas en los centros de salud sobre higiene y manipulación de alimentos con el fin de disminuir la prevalencia de las infecciones por *B. hominis*.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe N, Nagoshi M, Takami K, Sawano Y, Yoshikawa H. 2002. A survey of *Blastocystis* sp in livestock, pets, and zoo animals in Japan. *Vet Parasitol* 106: 203-212.
- Acurero E, La Corte M, Merchán F, Useche E. 2013. Prevalencia de *Blastocystis* sp. En preescolares y escolares del municipio de Maracaibo, Venezuela. *Rev Soc Ven Microbiolo* 33:146-150.
- Ashford R, Atkinson E. 1992. Epidemiology of *Blastocystis hominis* in Papua New Guinea: ageprevalence and associations with other parasites *Ann Trop Med Parasitol* 86: 129-136.
- Atias, A. 1997. *Parasitología Clínica*. Tercera edición. Publicaciones Técnica Mediterráneo, Santiago de Chile. Único.
- Barahona L, Maguiña C, Náquira C, Terashima A, Tello R. 2002. Sintomatología y factores epidemiológicos asociados al parasitismo por *Blastocystis hominis*. *Parasitol Latinoam* 57: 96-102.
- Bermúdez S, Ladera E, López V, Lozada M. 2011. *Blastocystis hominis* en la población escolar de la Escuela Básica “Los Magallanes” barrio Los Magallanes, municipio San Diego, estado Carabobo.
- Biolley M, Oberg C. 1993. *Blastocystis* en pacientes sintomáticos del Hospital Regional de Temuco, Chile. *Bol Chil Parasitol* 48: 25-7.
- Cedillo R, Chávez B, Gonzalez A, Tapia A, Yépez L. 2002. In vitro effect of nitazoxanide against *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* and *trichomonas vaginalis* trophozoites. *J Eukar- yotic Microbiol* 49(3):201–8.
- Clark CG, Diamond LS. 2002. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin Microbiol Rev* 15: 329-341.
- Devera R, Ortega N, Suárez M. 2007. Parásitos intestinales en la población del Instituto Nacional del Menor Ciudad Bolívar Venezuela. *Rev Soc Ven Microbiol* 27:19-24.

- Devera A, Velásquez J, Vásquez M, Azacón B, Jiménez M. 2000. *Blastocystis hominis*: criterios de patogenicidad. *Saber*12:23-28.
- Devera R, Velásquez V, Vásquez M. 1998. Blastocistosis en 9 Preescolares de Ciudad Bolívar, Venezuela. *Cad Saude Pública*.14:401-7.
- Doyle P, Helgason M, Mathias G, Proctor E.1990. Epidemiology and pathogenicity of *Blastocystis hominis* *J Clin Microbiol* 28: 116-121.
- Flores V, Raymundo L, Terashima A, Samalvides F, Gotuzzo E.2002. Distribución de la Entereoparasitosis en el Altiplano Peruano: Estudio en 6 comunidades rurales del departamento de Puno, Perú. *Rev. Gastroenterol, Perúv*.22n.4Lima oct./dic.
- Garavelli P, Scaglione L, Bicocchi R, Libanore M.1991 Pathogenicity of *Blastocystis hominis*. *Infection* 19: 185.
- Giacometti A, Cirioni O, Fiorentini A, Fortuna M, Scalise G. 1999. Irritable bowel syndrome in patients with *Blastocystis hominis* infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18: 436-439.
- Gómez J, Londoño A, Mejía S.2008. Prevalencia y factores de riesgo asociados a parasitismo intestinal en preescolares de zona urbana en Calarcá Colombia. *Rev Salud Púb* 11:72-81.
- Hareesh K, Suresh K, Khairul Anuar A, resistencia Saminathan S. 1999. Aislar de *Blastocystis hominis* al metronidazol. *Trop Med Int Salud* 4: 274-7.
- Ibáñez N, Jara C, Guerra A, Díaz E. 2004. Prevalencia del enteroparasitismo en escolares de comunidades nativas del alto Marañón, Amazonas, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 21(3).
- Johnson M, Thanou A, Boreham F, Baverstock R. 1989. *Blastocystis hominis*: phylogenetic affinities determined by rRNA sequence comparison. *Exp Parasitol* 68: 283-288.
- Kozubsky L, Archelli S. 2010. Algunas consideraciones acerca de *Blastocystis* sp, un parásito controversial. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 44(3): 371-6.
- Lanuza D, Carbajal A, Villar J, Borrás R. 1997. Description of an improved method for *Blastocystis hominis* culture and axenization. *Parasitol Res* 83: 60-63.

- Lazarte R, Oblitas W, Soto C. 1999. Tratamiento comparativo de la infección por *Blastocystis hominis* con Metronidazol y Secnidazol. Rev Socied Peruana de Medicina Interna. Vol. 12.
- Menounos G, Spanakos G, Tegos N, Vassalos M, Papadopoulou C, Vakalis C. 2008. Direct detection of *Blastocystis* sp in human faecal samples and subtype assignment using single strand conformational polymorphism and sequencing. Mol Cell Probes 22: 24-29.
- Moe K, Singh M, Howe J, Ho L, Tan S, Chen X, Yap E. 1996. Observations on the ultrastructure and viability of the cystic stage of *Blastocystis hominis* from human feces. Parasitol Res 82(5): 439-44.
- Noel C, Dufernez F, Gerbod D, Edgcomb VP, Delgado-Viscogliosi P, Ho LC, et al. 2005. Molecular phylogenies of *Blastocystis* isolates from different hosts: implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. J Clin Microbiol 43: 348-355.
- Pajuelo G, Lujan D, Paredes B. 2005. Estudio de enteroparásitos en el Hospital de Emergencias Pediátricas, Lima-Perú. Rev Med Hered 16 (3).
- Parkar U, Traub J, Vitali S, Elliot A, Levecke B, Robertson I, Geurden T, et al. 2011. Molecular characterization of *Blastocystis* isolates from zoo animals and their animal-keepers. Vet Parasitol 169: 8-17.
- Rivero Z, La Corte M, Bracho A, Villalobos R, Acurero E, Maldonado A, Lozano G, Diaz I. 2013. Rev Soc Ven Microbiolo 33:66-71.
- Rodríguez E, Mateos B, González J, Aguilar Y, Alarcón E, Mendoza A y col. 2008. Transición parasitaria a *Blastocystis hominis* en niños de la zona centro del estado de Guerrero, México. Parasitol Latinoam 63:20-8 8.
- Rondón L, Vargas M. 2003. *Blastocystis hominis*: Estudio propectivo, sintomatología y factores epidemiológicos asociados. Rev Gastroenterol 23: 29-35.
- Salinas J, Gonzales H. 2007. Infección por *Blastocystis*. Rev Gastroenterol 27(3) 264-274.

- Stensvold R, Suresh K, Tan S, Thompson C, Traub J, Viscogliosi E, et al. 2007. Terminology for *Blastocystis* subtypes a consensus. Trends Parasitol 23: 93-96.
- Stenzel J, Boreham L. 1996. *Blastocystis hominis*. revisited. Clin Microbiol rev. 9:563-84.
- Stenzel J, Boreham L. 1998. *Blastocystis hominis*. revisited. Clin Microbiol rev. 9(4):563-84.
- Suresh K, Smith H. 2004. Comparison of methods for detecting *Blastocystis hominis*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 23: 509-511.
- Tan S, Mirza H, Teo D, Wu B, Macary A. 2010. Current views on the clinical relevance of *Blastocystis* spp. Curr Infect Dis Rep 12: 28-35.
- Tan S, Singh M, Yap H. 2002. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. Int J Parasitol 32: 789-804.
- Tan S. 2008. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. Clin Microbiol Rev 21: 639-665.
- Velarde L, Mendoza M. 2006. Prevalencia de *Blastocystis hominis* en menores de 12 años de una población mexicana urbana. Rev. Cubana Pediatr 2006 disponible en línea: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S003475312006000400006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003475312006000400006)
- Zerpa R, Huicho L, Náquira C, Espinoza Y: 2000. A simplified culture method for *Blastocystis hominis*. rev Mex Patol Clín. 47(1):17-9.
- Zerpa R, Espinoza Y, Huiza A . 2012. Prueba de susceptibilidad antiparasitaria in vitro para *Blastocystis hominis*, *Entamoeba histolitica*-E.dispar, *Balantidium coli*. Ac Fac medic 73(1):47-9.
- Zierdt C. 1991. *Blastocystis hominis* past and future. Clin Microbiol Rev 4: 61-79.
- Zierdt H, Rude S, Bull S. 1967. Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. Am J Clin Pathol 48:495-501.



## IX. ANEXOS

### Anexo 01

#### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Prevalencia y susceptibilidad antiparasitaria in vitro de *Blastocystis hominis*  
aislados de pacientes atendidos en el Hospital Regional Lambayeque,  
Noviembre 2014 – Mayo de 2015.

Fecha de atención:...../...../.....

<b>I. Datos personales</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Apellidos y nombres:</li><li>• Edad:</li><li>• Género:</li><li>• Lugar de procedencia:</li></ul>
<b>II. Registro de resultados</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Examen Macroscópico</li><li>• Color</li><li>• Aspecto</li><li>• Consistencia</li><li>• Examen Directo</li><li>• Cultivo parasitológico</li></ul>

## Anexo 02

**Tabla 13.** Estimaciones del nivel de concentración de Metronidazol

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para Concentración		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior
0,010	0.461	0.249	0.644
0,020	0.533	0.307	0.723
0,030	0.585	0.351	0.778
0,040	0.627	0.388	0.823
0,050	0.664	0.420	0.862
0,060	0.697	0.450	0.896
0,070	0.727	0.478	0.928
0,080	0.755	0.504	0.957
0,090	0.781	0.529	0.985
0,100	0.806	0.553	1.012
0,150	0.920	0.663	1.131
0,200	1.021	0.764	1.241
0,250	1.116	0.860	1.347
0,300	1.210	0.953	1.454
0,350	1.304	1.045	1.565
0,400	1.399	1.138	1.684
0,450	1.498	1.232	1.813
0,500	1.603	1.327	1.956
0,550	1.714	1.426	2.116
0,600	1.836	1.529	2.300
0,650	1.970	1.639	2.513
0,700	2.123	1.758	2.766
0,750	2.300	1.892	3.076
0,800	2.516	2.048	3.472
0,850	2.793	2.240	4.008
0,900	3.185	2.500	4.817
0,910	3.288	2.566	5.037
0,920	3.403	2.639	5.289
0,930	3.534	2.722	5.582
0,940	3.687	2.817	5.929
0,950	3.869	2.929	6.352
0,960	4.095	3.065	6.890
0,970	4.391	3.240	7.616
0,980	4.818	3.487	8.705
0,990	5.575	3.911	10.756

### Anexo 03

**Tabla 14.** Estimaciones del nivel de concentración de Nitaxozanida

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para Concentración de Nitaxozanida			Límites de confianza al 95% para log(Concentración de Nitaxozanida)		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior
,010	.809	.408	1.223	-.092	-.390	.088
,020	.990	.535	1.444	-.004	-.271	.159
,030	1.126	.636	1.604	.052	-.197	.205
,040	1.241	.723	1.738	.094	-.141	.240
,050	1.343	.802	1.855	.128	-.096	.268
,060	1.436	.877	1.962	.157	-.057	.293
,070	1.523	.947	2.061	.183	-.023	.314
,080	1.605	1.015	2.155	.205	.007	.333
,090	1.683	1.081	2.244	.226	.034	.351
,100	1.759	1.145	2.329	.245	.059	.367
,150	2.111	1.450	2.726	.325	.161	.436
,200	2.441	1.744	3.099	.387	.241	.491
,250	2.764	2.037	3.469	.441	.309	.540
,300	3.090	2.335	3.850	.490	.368	.585
,350	3.427	2.642	4.253	.535	.422	.629
,400	3.781	2.961	4.689	.578	.471	.671
,450	4.158	3.297	5.169	.619	.518	.713
,500	4.565	3.652	5.709	.659	.563	.757
,550	5.012	4.032	6.325	.700	.606	.801
,600	5.512	4.445	7.043	.741	.648	.848
,650	6.081	4.899	7.897	.784	.690	.897
,700	6.744	5.411	8.937	.829	.733	.951
,750	7.540	6.005	10.247	.877	.779	1.011
,800	8.539	6.721	11.971	.931	.827	1.078
,850	9.871	7.639	14.398	.994	.883	1.158
,900	11.846	8.938	18.235	1.074	.951	1.261
,910	12.379	9.279	19.315	1.093	.967	1.286
,920	12.986	9.662	20.565	1.113	.985	1.313
,930	13.688	10.100	22.038	1.136	1.004	1.343
,940	14.516	10.610	23.813	1.162	1.026	1.377
,950	15.522	11.220	26.020	1.191	1.050	1.415
,960	16.794	11.978	28.885	1.225	1.078	1.461
,970	18.501	12.974	32.857	1.267	1.113	1.517
,980	21.042	14.420	39.018	1.323	1.159	1.591
,990	25.773	17.014	51.213	1.411	1.231	1.709

## Anexo 04

Susceptibilidad antiparasitaria de *B.hominis* frente al metronidazol y la Nitazoxanida

**Tabla 15.** Susceptibilidad antiparasitaria de *B.hominis* frente al metronidazol

Log Concentración	Número de sujetos	Respuestas observadas	Respuestas esperadas	Residuos	Probabilidad
-.301	24	1	.357	.643	.015
0.000	24	4	4.547	-.547	.189
.301	24	14	15.848	-1.848	.660
.602	24	24	22.946	1.054	.956

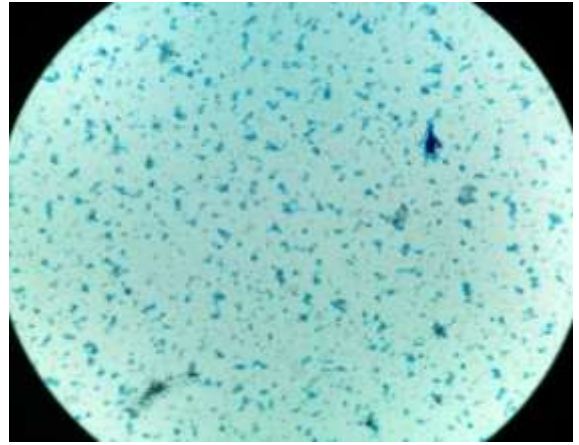
**Tabla 16.** Susceptibilidad antiparasitaria de *B.hominis* frente al Nitazoxanida

Log Concentración	Número de sujetos	Respuestas observadas	Respuestas esperadas	Residuos	Probabilidad
0	24	1	0,495	0,505	0,021
0,301	24	3	3,208	-0,208	0,134
0,602	24	9	10,309	-1,309	0,43
0,903	24	19	18,59	0,41	0,775
1,204	24	23	22,898	0,102	0,954
1,505	24	24	23,894	0,106	0,996

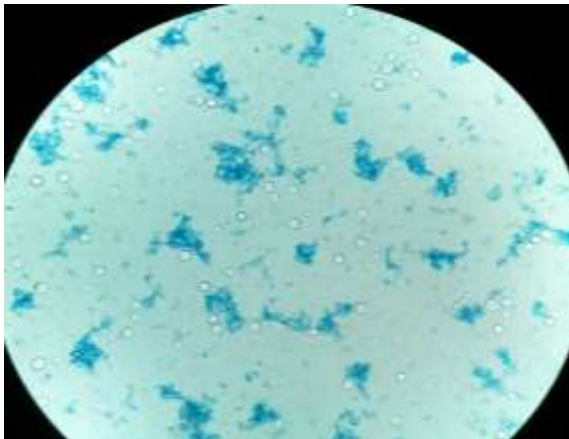
## Anexo 05



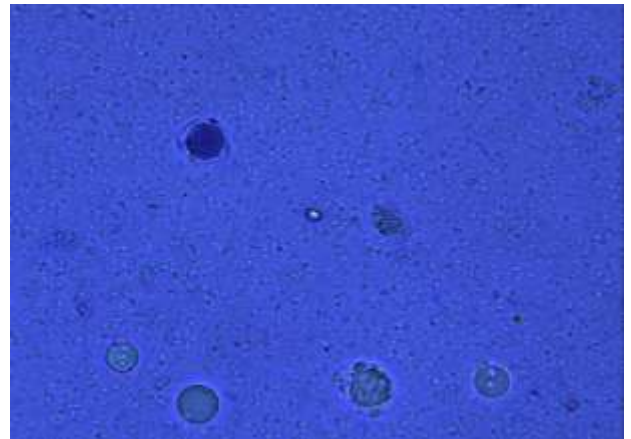
**Figura 3:** Preparación de la solución de Locke modificada para cultivar *B. hominis*.



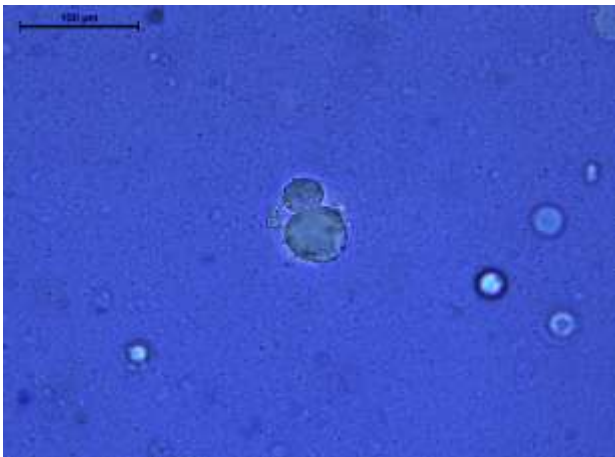
**Figura 4:** Crecimiento de *B. hominis* en los cultivos



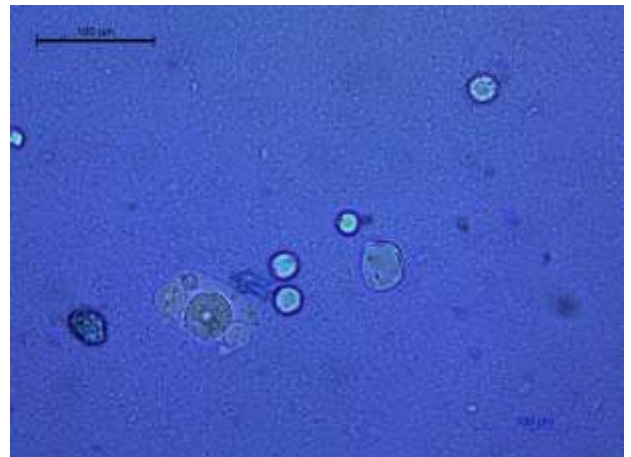
**Figura 5:** Crecimiento de *B. hominis* en los cultivos.



**Figura 6:** Viabilidad y Muerte de *B. hominis* en los cultivos, observados con Trypan Blue.

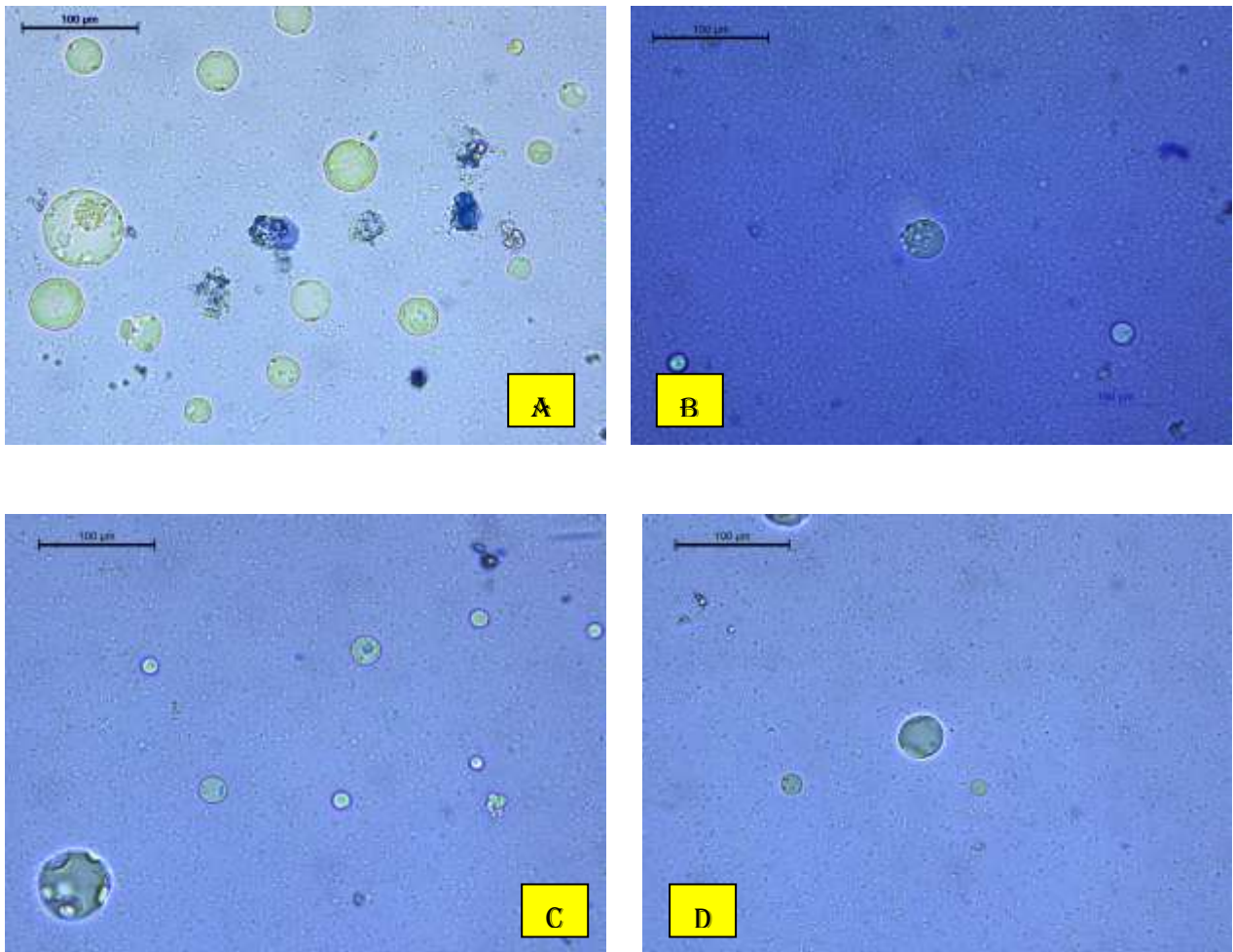


**Figura 7:** Endodiogenia de *B. hominis* en los cultivos.



**Figura 8:** Endodiogenia de *B. hominis* en los cultivos.

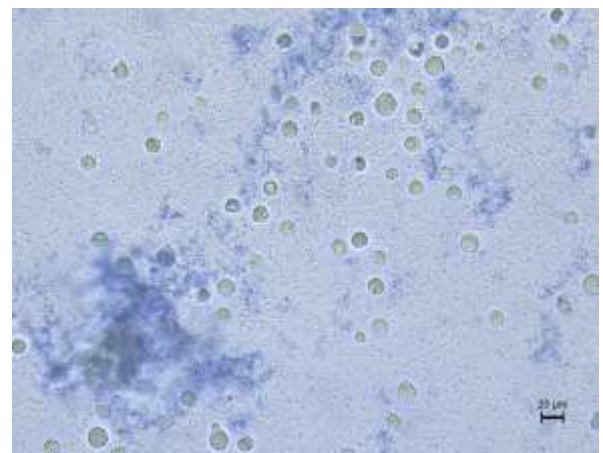
## Anexo 06



**Figura 9:** Diferentes formas de *B. hominis* obtenidos de los cultivos positivos. (A) Forma granular, vacuolar, división (B) Forma ameboide, (C) Forma granular, (D) Forma vacuolar



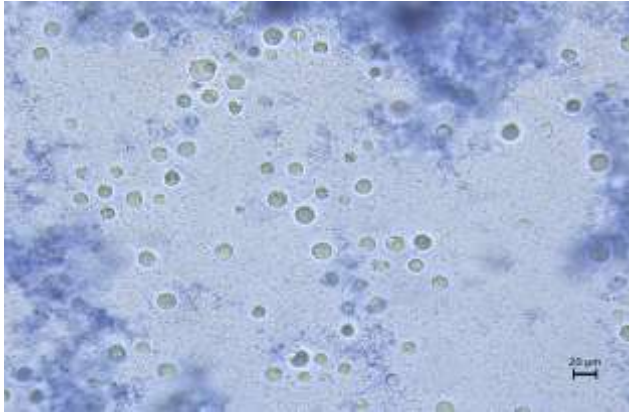
**Figura 10:** Preparación de las baterías para la prueba de susceptibilidad.



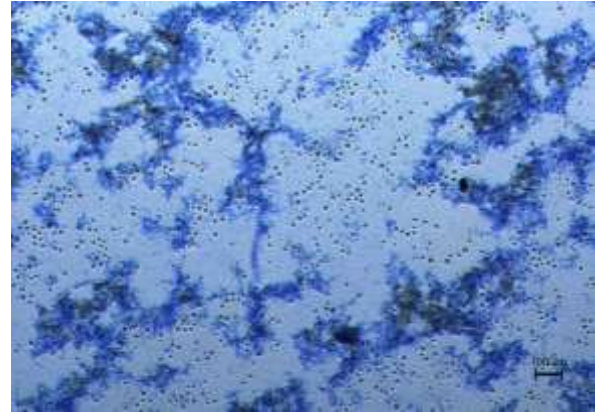
**Figura 11:** Crecimiento de *B. hominis* frente al Metronidazol.



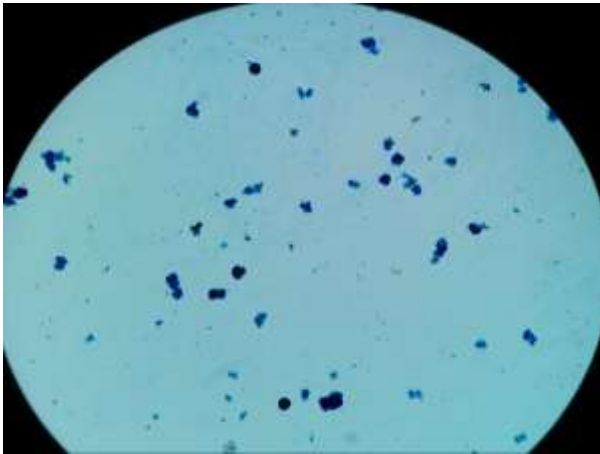
## Anexo 7



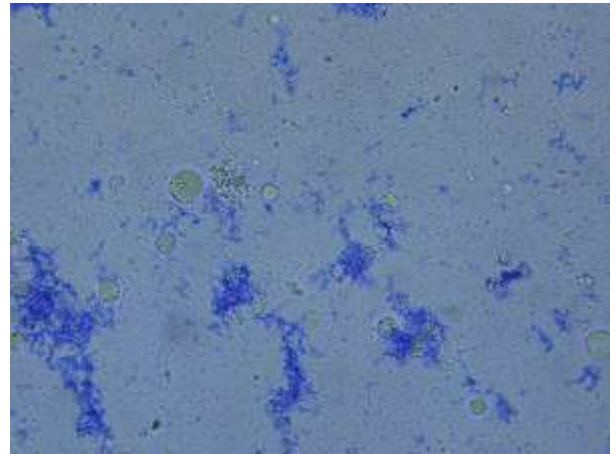
**Figura 12:** Crecimiento de *B. hominis* frente a la Nitazoxanida.



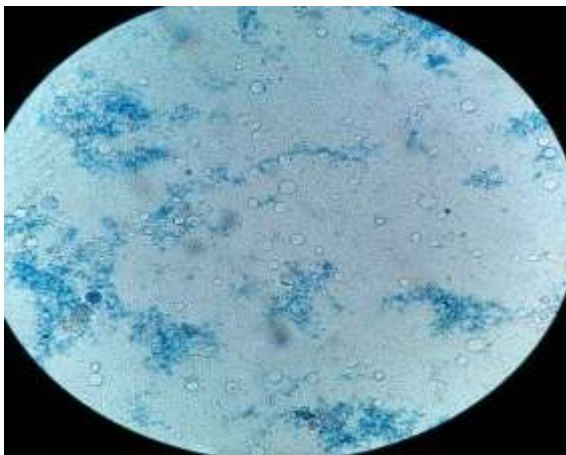
**Figura 13:** Crecimiento de *B. hominis* frente a la eritromicina.



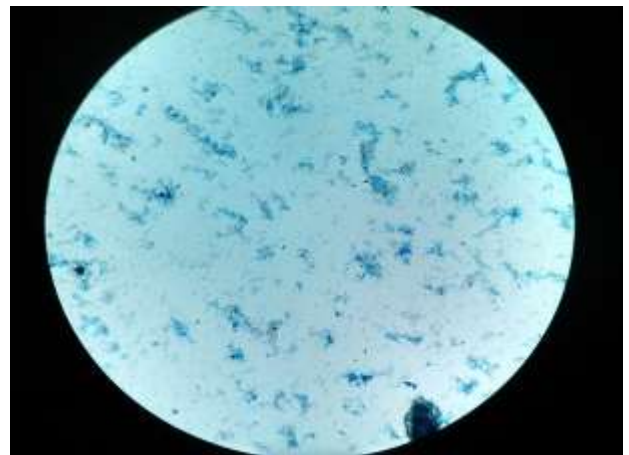
**Figura 14:** Muerte de *B. hominis* en la prueba de susceptibilidad.



**Figura 15:** Crecimiento de *B. hominis* frente al metronidazol



**Figura 16:** Crecimiento de *B. hominis* frente al Trimetropim/Sulfametaxazol



**Figura 17:** Crecimiento de *B. hominis* en las pruebas de control.